

PREGLEDNI RAD / REVIEW PAPER

DOI 10.2298/VETGL1502111P

UDC 616.98:578.833.1(497.11)

**GROZNICA ZAPADNOG NILA – ZNAČAJNA VEKTORSKA VIRUSNA
INFEKCIJA U SRBIJI: AKTUELNA SITUACIJA*****WNV INFECTION - AN EMERGENT VECTOR BORNE VIRAL INFECTION
IN SERBIA: CURRENT SITUATION**

Petrović Tamaš, Lupulović Diana, Petrić Dušan, Vasić Ana, Hrnjaković Cvjetković
Ivana, Milošević Vesna, Vidanović Dejan, Šekler Milanko, Lazić Sava,
Đuričić Bosiljka, Plavšić Budimir, Saiz Juan-Carlos

Virus Zapadnog Nila (VZN) je neurovirulentni, komarcima prenosivi flavivirus zoonotskog potencijala. Virus se održava u prirodi u enzootskom ciklusu kruženja između ptica kao domaćina i komaraca kao vektora virusa ali povremeno može inficirati i druge kičmenjake. Infekcija ljudi i konja može proći asimptomatično ili sa različitom kliničkom slikom od blagog febrilnog stanja do letalnog meningoencefalitisa. Poslednjih godina u centralnoj i južnoj Evropi, kao i u Srbiji je dramatično povećan broj, učestalost i težina oboljenja sa neurološkim poremećajima kod ptica, ljudi i konja, predstavljajući značajan problem veterinarskog i javnog zdravlja.

Značaj problema infekcije VZN u Srbiji je opisan preko trenutne epizootiološko-epidemiološke situacije bazirane na skorašnjim podacima o prisustvu ove infekcije kod prirodnih domaćina i vektora, kod konja kao sentinel životinja i drugih vrsta životinja, kao i u humanoj populaciji. Opisani su rezultati seroloških ispitivanja sprovedenih u Srbiji na uzorcima krvnih seruma konja uzorkovanih u različitim perio-

* Rad primljen za štampu 17. 08. 2014. godine

** Dr sc. vet. med. Tamaš Petrović, viši naučni saradnik; dr sc. Lupulović Diana, naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad, Srbija; dr sc. Dušan Petrić, redovni profesor, Laboratorija za medicinsku i veterinarsku entomologiju, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija; mr sc. Ana Vasić, istraživač saradnik, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija; dr sc. Ivana Hrnjaković Cvjetković, vanredni profesor, dr sc. Vesna Milošević, redovni profesor, Institut za javno zdravlje Vojvodine, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija; dr sc. Dejan Vidanović, naučni saradnik; dr sc. Milanko Šekler, naučni saradnik, Veterinarski specijalistički institut „Kraljevo“, Kraljevo, Srbija; dr sc. Sava Lazić, naučni savetnik, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad“, Novi Sad, Srbija; dr sc. vet. med. Bosiljka Đuričić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija; dr sc. Budimir Plavšić, naučni saradnik, Uprava za veterinu, Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine, Beograd, Srbija; dr sc. Juan-Carlos Saiz, naučni savetnik, Departman za biotehnologiju, Nacionalni istraživački institut za poljoprivredu i hranu (INIA), Madrid, Španija

dima tokom poslednjih 6 godina, kao i rezultati seroloških ispitivanja sprovedenih na uzorcima krvnih seruma drugih životinjskih vrsta, kao što su svinje, divlje svinje, srndaći i psi. Takođe, prikazani su i analizirani rezultati prvih istraživanja prisustva virusa u komarcima vektorima i divljim pticama kao prirodnim domaćinima u Srbiji. Pored toga, predstavljeni su i rezultati seroloških istraživanja sprovedenih u humanoj populaciji u Srbiji tokom poslednjih nekoliko godina, kao i podaci o epidemijama u 2012. i 2013. godini.

Na osnovu postojećeg znanja o epidemiološkoj situaciji, istaknuta je presudna uloga veterinarske službe u ranoj detekciji prisustva VZN, kao i tekući nacionalni program nadzora prisustva VZN kod sentinel životinja, komaraca i divljih ptica u Srbiji.

Ključne reči: virus Zapadnog Nila, detekcija antitela i virusa, domaće i divlje životinje, ljudi, komaraci, program nadzora, Srbija

Uvod / Introduction

Virus Zapadnog Nila (VZN – *West Nile virus - WNV*) je neurovirulentni, komarcima prenosivi flavivirus zoonotskog potencijala. Virus se održava u prirodi u enzootskom ciklusu kruženja između ptica kao domaćina i komaraca kao vektora virusa. Virus povremeno inficira i druge kičmenjake, uključujući tu i čoveka i konje, kod kojih izaziva sporadična oboljenja koja nekad mogu završiti smrtnim ishodom (Martin-Acables i Caiz, 2012). VZN je prvi put izolovan iz uzoraka jedne visokofebrične žene u Ugandi (*West Nile* okrug) 1937. godine (Smithburn i sar., 1940), po čemu je infekcija i dobila naziv „groznica Zapadnog Nila“ (GZN), a danas se, nakon Denga virusa, smatra drugim najrasprostranjenijim flavivirusom u svetu. VZN je danas endemski prisutan na područjima Afrike, Azije, Evrope, Bliskog istoka, Australije i na američkom kontinentu (Komar, 2003; Trevejo i Eidson, 2008; Hrnjaković-Cvetković i sar., 2009; Calistri i sar., 2010; Weissenböck i sar., 2010; Papa i sar., 2011). Na američkom kontinentu VZN se prvi put pojavio u Njujorku 1999. i za samo nekoliko godina se rapidno proširio na celokupno područje SAD, Kanade, Meksika i Centralne Amerike i trenutno se endemski javlja i u SAD-u i u Kanadi (Valiakos i sar., 2011).

Genom VZN predstavlja jednolančana pozitivno orjentisana RNK sa oko 11000 nukleotida, koja indukuje sintezu tri strukturna i sedam nestrukturnih proteina (Martin-Acables i Caiz, 2012). Do sada je poznato 5 linija, odnosno tipova virusa od kojih su linija 1 i 2 široko rasprostranjene u svetu (Martin-Acables i Caiz, 2012). Na području Evrope, pretežno u mediteranskim zemljama, su cirkulisali samo sojevi linije 1 virusa sve do 2004. godine, kada je u Mađarskoj, po prvi put u Evropi, iz jastreba izolovan VZN linije 2. Od tada, VZN linije 2 je potvrđen u velikom broju divljih ptica, vektorskih komaraca i ljudi u Mađarskoj, Austriji, Rusiji, Italiji, Grčkoj, a u novije vreme i u Srbiji (Bakonyi i sar., 2006; Savini i sar., 2012;

Valiakos i sar., 2011; Papa i sar., 2011; Erdélyi i sar., 2007; Platonov i sar., 2008; Wodak i sar., 2011; Bagnarelli i sar., 2011; Petrović i sar., 2013).

Infekcija VZN je opisana kod većeg broja kičmenjaka (Komar i sar., 2003). Virus se u prirodi održava u ciklusu kruženja između ornitofilnih komaraca kao vektora virusa, najčešće iz roda *Culex* (Hayes i sar., 2005; Ziegler i sar., 2012), u koji spada i tzv. „kućni komarac“ *Culex pipiens pipiens* koji je kod nas najčešći vektor virusa, ali i rodova *Aedes* i *Ochlerotatus* i određenih vrsta divljih ptica koji su pravi domaćini virusa (Savini i sar., 2012; Ziegler i sar., 2012). Do sada je VZN potvrđen kod više od 150 vrsta divljih i domaćih ptica (van der Meulen i sar., 2005). Divlje ptice su posebno značajne sa aspekta zdravlja ljudi i životinja jer često migriraju preko nacionalnih ali i interkontinentalnih granica, predstavljajući tako prenosioc virusa na velike razdaljine (Linke i sar., 2007). Kod većeg broja vrsta divljih ptica ali ne svih koje su podložne infekciji, nivo viremije, odnosno broj virusnih čestica koji se nalazi u krvotoku u fazi viremije, je dovoljno veliki da omoguću prenošenje virusa na komarce pri ubodu (Komar i sar., 2003). Ljudi i sisari, a među njima naročito konji, su slučajni domaćini virusa, tzv. „slepa ulica“ za dalje širenje virusa. Nemaju značajniju ulogu u prirodnom ciklusu kruženja virusa jer je nivo viremije prilikom njihove infekcije suviše nizak da bi se virus preneo na komarce prilikom uboda (Dauphin i sar., 2004; Hrnjaković-Cvetković i sar., 2009; Valiakos i sar., 2011), ali se zato naročito kod ljudi i konja infekcija može u manjem procentu manifestovati teškim neuroin vazivnim oboljenjem, često i sa smrtnim ishodom.

Infekcije VZN kod ljudi prolaze najčešće asimptomatično (80–90% slučajeva). Kod manjeg broja inficiranih osoba (do 20%) se mogu pojaviti blaži klinički simptomi koji podsećaju na oboljenje slično gripu, sa naglom pojavom povišene telesne temperature, glavoboljom, bolom u grlu, leđima, mišićima, zglobovima, umorom, blagim prolaznim osipom i limfadenopatijom. Međutim, prosečno kod jednog od 150 slučajeva i to najčešće kod starijih osoba, može se razviti teža neuroin vazivna forma bolesti sa encefalitisom ili meningoencefalitisom, koja može dovesti do smrtnog ishoda (Komar, 2000; Kramer i sar., 2007; Blitvich, 2008; Hrnjaković-Cvetković i sar., 2009). Kod konja infekcija VZN, kao i kod ljudi, prolazi najčešće klinički inaparentno ali čak i u do 10% slučajeva se javljaju neurološke smetnje kod kojih je mortalitet i do 50% (Blitvich, 2008; Calistri i sar., 2010).

U Evropi je ovaj virus prisutan već decenijama, ali se nedavno, broj, učestalost i ozbiljnost epidemija sa neurološkim posledicama za ptice, ljude i konje dramatično povećao u centralnoj i južnoj Evropi, predstavljajući ozbiljan problem u veterinarskom i javnom zdravlju (Martin-Acibes i Caiz, 2012; Ziegler i sar., 2012; Petrović i sar., 2013). Na području Evrope, do 90-tih godina prošlog veka, VZN je uzrokovao samo sporadična izbijanja bolesti sa retkim kliničkim slučajevima encefalitisa ali se epidemiološka situacija promenila sa pojavom virusa veće virulencije u Rumuniji, Rusiji i na području Mediterana, uzrokujući desetine smrtnih ishoda kako ljudi, tako i konja (Hubalek i Halouzka, 1999; Komar, 2000; Kramer i sar., 2007; Blitvich, 2008; Hrnjaković-Cvetković i sar., 2009; Calistri i sar., 2010).

U proteklih nekoliko godina slučajevi oboljenja u humanoj populaciji su opisani u Italiji, Mađarskoj, Rumuniji, kao i Grčkoj (Tsai i sar., 1998; Sirbu i sar., 2010; Danis i sar., 2011; Bagnarelli i sar., 2011; Papa i sar., 2011). Među najvećim epidemijama je ona u Grčkoj tokom 2010. godine sa 262 laboratorijski potvrđena slučaja, od kojih je 197 bilo neuroinvazivnih i 33 smrtna ishoda (Danis i sar., 2011; Papa i sar., 2011). Iste 2010. godine u Rumuniji je detektovano 57 laboratorijski potvrđenih slučajeva i 5 smrtnih ishoda (Sirbu i sar., 2010). Slična epizootiološka situacija je opisana i kod konja na području Evrope, uključujući tu i veliku epizootiju na području severne Italije u 2008. godini u kojoj je infekcija VZN potvrđena u 251 štali konja sa 794 obolela slučaja i 5 uginuća (Calistri i sar., 2010). Tokom leta 2010. godine je prvi put u Španiji potvrđeno izbijanje teških kliničkih oboljenja kod konja uzrokovanih akutnom infekcijom VZN. Utvrđeno je 102 klinička slučaja bolesti iz 36 štala od kojih je 15 uginulo, a tri su eutanazirana zbog teških kliničkih simptoma bolesti (Garcia-Bocanegra i sar., 2011). U susednoj Republici Hrvatskoj su još početkom ovoga veka počela prva istraživanja prevalencije infekcije VZN kod konja. Od 980 uzorkovanih konja tokom 2001. i 2002. godine utvrđeno je samo 4 (0,4%) seropozitivnih životinja (Madić i sar., 2007), ali je kod 2098 uzorkovanih konja tokom 2010. i 2011. godine prevalenca bila već 3,43% (72/2098) (Barbić i sar., 2012).

Cilj ovoga rada jeste da prikaže istraživanja koja su na temu epidemiologije i dijagnostike VZN rađena na području Srbije u proteklih nekoliko godina i da na taj način ukaže na aktuelnu epidemiološku i epizootiološku situaciju, kao i na mere nadzora VZN koje se trenutno preduzimaju u Republici Srbiji.

Pojava infekcije VZN u humanoj populaciji na području Srbije / *Occurrence of WNV infection in human population in the region of Serbia*

Istorijat pojave groznice Zapadnog Nila u Srbiji je dobrim delom nepoznat. Prva serološka istraživanja su sprovedena još 1972. godine, pri čemu su antitepla protiv VZN utvrđena u 2,6 do 4,7% ispitanih humanih seruma (Borđoški i sar., 1972). Serološka istraživanja prisustva VZN u humanoj populaciji koja su krajem 80-tih godina prošlog veka sprovedena na području bivše Jugoslavije su ukazala na seroprevalancu 1–3% u Hrvatskoj, 1% u Bosni i Hercegovini, na području Kosova i Crne Gore i 1–8% u Srbiji (Vesenjani-Hirjan i sar., 1991).

U proteklih nekoliko godina se intenziviraju serološka istraživanja prisustva VZN u humanoj populaciji. Tako je tokom 2010. godine ELISA IgG testom izvršeno retrogradno ispitivanje krvnih seruma 45 pacijenata hospitalizovanih u periodu od 2001. do 2005. godine i tokom 2010. godine sa kliničkim nalazom encefalitisa ili meningoencefalitisa, kao i krvnih seruma 406 klinički zdravih osoba uzorkovanih između 2005. i 2010. godine. Utvrđena seroprevalenca na VZN je iznosila 6,67% kod hospitalizovanih pacijenata i 3,69% kod klinički zdravih osoba. Posmatrajući zbirno, seroprevalenca na VZN kod svih ispitanih uzoraka od 2001–2010. godine je iznosila 3,99% (18/451) sa variranjem u odnosu na godinu uzorkovanja

od 1,97% do 6,04%. Od ukupno 337 osoba uzorkovanih tokom 2010. godine, koje su bile izložene bar jednom od rizika da su bile u kontaktu sa komarcima, utvrđena seroprevalenca na VZN je iznosila 5,04% (Petrić i sar., 2012).

Infekcija virusom Zapadnog Nila je zvanično prvi put registrovana u humanoj populaciji na teritoriji Republike Srbije krajem jula i početkom avgusta 2012. godine (EpiSouth Weekly Epi Bulletin - N°232, 2012; ECDC, 2012; Popović i sar., 2013; Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Pre 2012. godine prisustvo infekcije VZN nije nikada bilo klinički potvrđeno na području Srbije. U sezoni 2012. godine, zaključno sa 14. novembrom, registrovan je ukupno 71 slučaj obolevanja u Republici Srbiji (ECDC, 2012; Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Ukupno 81,7% obolelih osoba bilo je iznad 50 godina starosti, koja se inače smatra starosnom granicom iznad koje je povećen rizik od razvoja neuroinvazivnog oblika bolesti, a među njima je 75,9% imalo neko hronično oboljenje (Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Najveći broj obolelih je bio sa teritorije Beograda (74,6%), Južnobanatskog okruga (8,5%) i Sremskog okruga (7%) i najviše ih je (86%) registrovano u avgustu i septembru 2012. godine, što se poklapa sa najvećom aktivnošću komaraca (EpiSouth Weekly Epi Bulletin - N°240; ECDC, 2012; Popović i sar., 2013; Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Ukupno je potvrđeno 9 smrtnih ishoda, odnosno letalitet je iznosio 12,7% (Institut za javno zdravlje Srbije, 2014).

U sezoni 2013. zaključno sa 2. novembrom, registrovana su 303 slučaja obolevanja od groznice Zapadnog Nila (GZN) na teritoriji 18 okruga. Na osnovu laboratorijskih kriterijuma za klasifikaciju slučajeva infekcije VZN Evropskog centra za kontrolu bolesti, 200 slučajeva je klasifikovano kao potvrđeni slučajevi infekcije virusom Zapadnog Nila (prisutna VZN specifična IgM antitela u likvoru), a 103 slučaja klasifikovana su kao verovatni slučajevi infekcije (VZN specifična IgM antitela prisutna u serumu) (ECDC, 2013; Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Ukupno 83,5% obolelih osoba bilo je u uzrastu iznad 50 godina starosti, među njima je 72,3% bolesnika imalo i drugih zdravstvenih problema, a u uzrastu preko 70 godina registrovano je 40,3% obolelih, među kojima je 80,3% imalo i drugih zdravstvenih problema. Od ukupnog broja registrovanih slučajeva 93% je bilo hospitalizovano (Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Najveći broj obolelih je bio sa teritorije Grada Beograda (172 obolela, 56,8%), Južnobanatskog okruga (16,2%), Južnobačkog (6,6%) i Sremskog okruga (3,6%), a najveći broj slučajeva (70,3%) registrovan je u avgustu (ECDC, 2013; Institut za javno zdravlje Srbije, 2014). Među potvrđenim i verovatnim slučajevima obolevanja bilo je ukupno 35 smrtnih ishoda koji se mogu dovesti u vezu sa infekcijom VZN (osobe su bile starije od 50 godina, letalitet 11,6%). Od ukupnog broja umrlih osoba 83% je imalo neko hronično oboljenje (Institut za javno zdravlje Srbije, 2014).

Svi gore navedeni rezultati, a posebno epidemije u 2012. i 2013. godini, kao i prvi slučajevi bolesti u avgustu 2014. godine (Institut za javno zdravlje Srbije, 2014) ukazuju na činjenicu da je VZN postao endemski prisutan na području Srbije. Na osnovu pomenutog, može se pretpostaviti da će se ova infekcija javljati i

u narednim godinama, predstavljajući stalnu pretnju za javno zdravlje koju je neophodno kontrolisati, odnosno konstantno pratiti i prevenirati.

Epizootiološka situacija VZN kod konja na području Srbije / *Epizootiological situation regarding WNV in horses in the region of Serbia*

Prva serološka istraživanja prisustva infekcije uzrokovane VZN kod konja su sprovedena na uzorcima krvnih seruma 349 životinja sa područja Vojvodine, Beograda i opštine Šabac uzorkovanih tokom 2009. i 2010. godine (Lupulović i sar., 2011). Deo ispitanih životinja je poticao sa ergela sportskih konja (1/3) a deo iz individualnog uzgoja (2/3). Skoro polovina (48,4%) ispitanih su bili sportski konji, 36% lipicaneri, 10,2% poniji, 1,7% arapski konji i 3,8% su bili mešanci, prosečne starosti 7,9 godina (3–19 godina). Ispitivanje, sprovedeno nekomercijalnim ELISA testom baziranim na rekombinantnom E (rE) proteinu omotača VZN i potvrdom pozitivnih nalaza plak redukcioni neutralizacionim testom (PRNT) je pokazalo da 12% (42/349) ispitanih konja poseduje specifična antitela protiv VZN. Seropozitivne jednike su potvrđene na području 14 od 28 ispitanih opština, na međusobnoj udaljenosti i do 200 km. Dobijeni rezultati su ukazali na značajnu cirkulaciju VZN na području Srbije, odnosno na mnogo intenzivniju cirkulaciju nego što se to do tada smatralo. Pored toga, uzorak krvnog seruma jednog konja je unakrsno neutralizovao i Usutu virus, što je ukazivalo na cirkulisanje i ovoga flavivirusa na području Srbije. Ovo je ujedno bio i prvi nalaz visokog titra antitela (PRNT₉₀ = 90) protiv Usutu virusa kod konja (Lupulović i sar., 2011).

U drugom sličnom ispitivanju Medića i saradnika (2014), testirano je 252 uzorka krvnih seruma konja iz 7 ergela sa područja Vojvodine i Beograda, uzorkovanih u periodu od 2007. do 2011. godine ali pretežno 2010. i 2011. godine. Serološka ispitivanja su sprovedena komercijalnim ELISA testom, a jedan broj pozitivnih uzoraka seruma na prisustvo antitela protiv VZN je potvrđen I PRNT testom. Utvrđena prevalenca seropozitivnih konja na VZN je iznosila 28% (72/252). Seroprevalenca se po ispitanim ergelama kretala od 13,3% do 40% seropozitivnih ergela. Najveća seroprevalenca na VZN je utvrđena u ergelama blizu granice sa Rumunijom (40%) i na području Beograda (35%) (Medić i sar, 2014). Utvrđena veća prevalenca konja koji su bili u kontaktu sa VZN u odnosu na prethodno opisano ispitivanje, sprovedeno na istom području, se može objasniti na dva načina. Prvi je u vezi sa načinom uzgoja i držanja konja. U drugom ispitivanju su učestvovali isključivo konji držani u ergelama u kojima je veći broj životinja na jednom mestu, pa ukoliko na tim mikrolokalitetima postoji cirkulacija VZN, veliki broj životinja će i biti inficiran. Istovremeno, to su sportske životinje koje mnogo putuju po trkama i izlozbaama, često i van Srbije, pa je i šansa da dođu u kontakt sa virusom veća. Drugo objašnjenje, koje je verovatnije ali ne isključuje prvo, jeste da je većina uzoraka u drugom ispitivanju uzorkovano tokom 2010. i 2011. godine, odnosno nešto kasnije u odnosu na prvo ispitivanje, u periodu kada se u velikoj meri intenzivira cirkulacija VZN na području Srbije, što će naredna ispitivanja i pojava

epidemija kod ljudi i potvrditi. Visoka seroprevalenca utvrđena u ergelama blizu granice sa Rumunijom i na području Beograda je ukazivala na moguće lokalitete intenzivnije cirkulacije VZN, kao i moguće pravce širenja (ulaska) VZN na područje Srbije. U Rumuniji je 2008–2010. utvrđena intenzivna cirkulacija virusa (Sirbu i sar., 2010), a sa druge strane Beograd se nalazi na Dunavu, području sa intenzivnom cirkulacijom migratornih divljih ptica koje su domaćini i vektori VZN na velike razdaljine.

Petrović i saradnici (2014) sprovedli su treće testiranje konja odmah nakon pojave prve ikada zabeležene epidemije VZN kod ljudi 2012. godine. Uzorci krvnih seruma 130 konja iz 6 već ispitivanih ergela sa područja Vojvodine i jednog broja individualno držanih konja sa područja Novog Bečeja su uzorkovani tokom novembra i decembra 2012. godine. Serološka ispitivanja su sprovedena komercijalnim ELISA testom, a pozitivni nalazi su potvrđeni virusneutralizacionim testom. Pozitivan rezultat na prisustvo specifičnih antitela protiv VZN je utvrđen kod 49,23% (64/130) uzoraka. Sudeći prema ispitivanim ergelama, procenat seropozitivnih konja se kretao od 35% do 64% (Petrović i sar., 2014). Utvrđena prevalenca seropozitivnih konja koji su bili u kontaktu sa virusom je bila značajno veća nego ona utvrđena kod istih ergala u uzorcima uzorkovanim 2009–2010. i 2011. godine (Lupulović i sar., 2011; Medić i sar., 2014), pri čemu je seroprevalenca u 4 od 6 ispitanih ergela bila preko 50%, što ukazuje na intenzivnu cirkulaciju virusa tokom 2011. i 2012. godine. U dve ergele je utvrđen veliki porast seroprevalence i to sa 21,9% na 64% i sa 14,3% na 50% seropozitivnih životinja. Obe ove ergele su locirane u Južnobačkom okrugu, u blizini Dunava i Tise, u područjima sa brojnom populacijom vektorskih komaraca i prijemčivih vrsta divljih ptica i posledično verovatnom intenzivnom cirkulacijom VZN. Takođe, od 21 konja koji je u ranijim testiranjima (2009/2010) bio negativan na prisustvo antitela protiv VZN, kod 8 konja iz 3 od 5 ispitivanih ergela je utvrđena serokonverzija, što potvrđuje tvrdnju o intenzivnoj cirkulaciji VZN tokom 2011. i 2012. godine (Petrović i sar., 2014). Tvrdnju o skorijoj intenzivnoj cirkulaciji VZN na ispitivanom području Srbije direktno potvrđuje i nalaz visokog procenta seropozitivnih konja u uzrastu do 3 godine (56,57%), a zatim i u uzrastu od 3 do 5 godina (60%). U uzrastu ispitivanih konja od 5 do 10 godina utvrđena je seroprevalenca od 51,85%, a kod životinja preko 10 godina starosti 32,26% (Petrović i sar., 2014).

Rezultati svih prethodno navedenih ispitivanja sprovedenih na populaciji konja u Srbiji ukazuju na pojavu i intenziviranje cirkulacije VZN na području severnih i centralnih područja Srbije u periodu od 2009. godine, kao i na dalji pozitivan trend širenja infekcije VZN. Istovremeno, koliko je nama poznato, nije bilo prijava kliničkih znakova bolesti kod konja koji bi direktno ukazivali na infekciju VZN.

Seroprevalenca VZN kod različitih domaćih i divljih vrsta životinja / *Seroprevalence of WNV in various domestic and wild animal species*

U istraživanjima sprovedenim u periodu 2008. do 2012. godine, uzorkovano je i serološki ispitano agar gel imunodifuzionim testom na prisustvo antitela protiv VZN ukupno 2736 uzoraka krvnih seruma 8 različitih vrsta životinja sa 18 lokaliteta sa celog područja Republike Srbije (Đuričić i sar., 2013). Osim kod konja, prisustvo antitela protiv VZN je potvrđeno i kod pasa (10/1076; 0,93%) na 4 od 10 ispitivanih lokaliteta i živine (1/318; 0,13%) na 1 od 3 ispitivana lokaliteta, a nije utvrđeno u uzorcima ispitanih magaraca (0/66), ovaca (0/102), koza (0/6), goveda (0/30) niti jelena (0/5) (Đuričić i sar., 2013).

Pored pomenutog istraživanja, sprovedeno je i serološko testiranje 279 uzoraka krvnih seruma domaćih svinja uzorkovanih krajem 2010. i početkom 2011. godine sa tri velike farme svinja u Vojvodini, 91 uzorak krvnih seruma srna uzorkovanih 2011. i 2012. godine na istom području i 318 uzoraka krvnih seruma divljih svinja uzorkovanih tokom lovne sezone 2011/2012. godine sa područja Vojvodine, Mačvanskog, Kolubarskog, Niškog, Nišavskog, Jablaničkog, Pirotskog i Rasinskog okruga (Escribano-Romero i sar. 2015). Ispitivanje prisustva specifičnih antitela protiv VZN je sprovedeno nekomercijalnim ELISA testom baziranim na rekombinantnom E (rE) proteinu omotača VZN i potvrdom pozitivnih nalaza PRNT metodom. Pozitivan nalaz ELISA testom je dobijen kod 43 (15,4%) svinja, 17 (18,7%) srna i 56 (17,6%) divljih svinja (Escribano-Romero i sar. 2015). Dobijeni rezultati su ukazivali na intenzivnu cirkulaciju VZN na celokupnom ispitivanom području, s akcentom na utvrđenu intenzivniju cirkulaciju VZN na području severa zemlje (područje Vojvodine).

Prisustvo VZN u prirodnim domaćinima i vektorima virusa u Srbiji / *Presence of WNV in natural hosts and virus vectors in Serbia*

Prva ispitivanja prisustva VZN kod divljih ptica u Srbiji kao prirodnog domaćina virusa su počela krajem 2011. i u toku 2012. godine. Ispitivanja su bila pre svega potaknuta prethodno navedenim serološkim ispitivanjima sprovedenim kod konja. U cilju utvrđivanja prisustva virusa Zapadnog Nila u Srbiji, ispitano je prisustvo specifičnih antitela protiv VZN u krvnim serumima 92 divlje ptice i prisustvo samog virusa u zbirnim uzorcima tkiva 81 divlje ptice. Na ovaj način je ukupno testirano 133 divljih ptica, svrstanih u 45 migratornih i nemigratornih vrsta iz 27 familija, uzorkovanih ili prikupljenih tokom 2012. godine na području Vojvodine (Petrović i sar., 2013). Uzorci su poticali od živih zarobljenih divljih ptica (neke od njih tokom postupka prstenovanja), divljih ptica koje su uginule u rehabilitacionom centru u Subotici ili od onih koje su pronađene uginule i poslate u centar. Prisustvo specifičnih antitela protiv VZN je utvrđeno nekomercijalnim, prethodno validovanim ELISA testom, baziranim na rekombinantnom E (rE) proteinu omotača virusa. Svi uzorci krvnih seruma koji su dali pozitivnu reakciju u ELISA testu, kao i jedan broj uzoraka sa negativnim nalazom, su ispitani i na prisustvo virusa

specifičnih neutralizacionih antitela pomoću PRNT₉₀ testa na kulturi Vero ćelija. Prisustvo anti-WNV IgG antitela je utvrđeno ELISA testom kod 7 (7,6%) uzoraka: 4 uzorka seruma labudova (*Cygnus olor*), 2 uzorka orla belorepana (*Haliaeetus albicillas*), i 1 uzorku fazana (*Phasianus colchicus*). Pet od ovih uzoraka su neutralisala VZN na kulturi ćelija u niskom PRNT₉₀ titru koji se kretao od 22 do 58, osim uzorka jednog orla belorepana, kod koga je utvrđen titar antitela preko 160 (PRNT₉₀ >160). Tri od pomenutih 7 seropozitivnih ptica su stancarice (2 orla belorepana i fazan) dok su prestale 4 seropozitivne ptice labudovi koji spadaju u migratorne vrste ptica ali mogu biti i stancarice u zavisnosti od jačine zime. Pored navedenog, jedan od 12 uzorka seruma testiranih PRNT testom na Usutu virus (USUV) je dao pozitivan nalaz, ukazujući na istovremenu cirkulaciju i ovog flavivirusa u populaciji divljih ptica na području Srbije (Petrović i sar., 2013).

Prisustvo genoma virusa Zapadnog Nila u uzorcima tkiva 81 divlje ptice je vršeno molekularnom metodom RT-qPCR (reverzna transkripcija – lančana reakcija polimeraze u stvarnom vremenu) i pozitivan nalaz je dobijen u uzorcima tkiva 9 ptica: 3 jastreba (*Accipiter gentilis*), 2 orla belorepana, 1 galeba (*Larus michahellis*), 1 sive vrane (*Corvus cornix*), 1 brkate senice (*Panurus biarmicus*) i 1 fazana. Sedam od ovih ptica je uginulo tokom leta, a dve ptice (fazan i jedan jastreb) su uginule krajem zime i početkom proleća 2012 godine. Sedam od 9 ptica pozitivnih na prisustvo virusa su bile stancarice, što ukazuje na to da prisustvo VZN u Srbiji nije samo rezultat unošenja virusa putem migratornih ptica svake godine, već da je VZN i endemski prisutan na području Srbije (Petrović i sar., 2013). Pored toga, 5 od 9 ptica pozitivnih na prisustvo virusa pripadaju grabljkicama, ukazujući na činjenicu da ove vrste ptica imaju značajnu ulogu u prenošenju VZN na našim područjima što je u saglasnosti sa nalazima u okolnim državama (Bakonyi i sar., 2006). Genomi svih utvrđenih virusnih izolata su i parcijalno sekvencionirani u delu genoma koji kodira sintezu strukturnog proteina omotača virusa (E – envelope region genoma), a izolat iz jednog jastreba SRB- Novi Sad/12 je izolovan na Vero kulturi ćelija i sekvencioniran u dužini celog genoma. Filogenetskom analizom i molekularnom tipizacijom izolata utvrđeno je da svi spadaju u liniju 2 VZN i da su veoma slični izolatima koji su uzrokovali epidemije kod ljudi i životinja u proteklih nekoliko godina u Mađarskoj, Rumuniji i Grčkoj. Pored toga, utvrđeno je i da svi izolati VZN iz Srbije nisu identični nego da se razlikuju za nekoliko nukleotida formirajući dva potpuno zasebna ogranka (klastera) virusa koja su cirkulisala istovremeno tokom leta 2012. godine u Srbiji (Petrović i sar., 2013). Ovi rezultati ukazuju da je najverovatnije VZN ušao u Srbiju u najmanje dva različita vremena, odnosno puteva unosa i to najverovatnije iz Mađarske i Rumunije.

Uporedo sa serološkim ispitivanjem prisustva VZN u populaciji konja i ispitivanjima prisustva ovoga virusa kod divljih ptica, vršena su i istraživanja prisustva VZN u komarcima kao vektorima virusa. Prva istraživanja su sprovedena još u periodu od 2005. do 2010. godine na uzorcima komaraca prikupljenih klopka na bazi CO₂ u periodima jun–oktobar (Petrić i sar., 2012). Lokacije za uzorkovanje, njih ukupno 66 na području 29 naseljenih mesta u Vojvodini, su odabrane na

osnovu poznatih lokaliteta na kojima se skupljaju migratorne ptice i na kojima je od ranije utvrđivana značajna populacija vektora VZN – komaraca iz roda *Culex spp.* (period od 2005. do 2009. godine), kao i predhodnih seroloških nalaza antitela protiv VZN u krvnim serumima ljudi, te su klopke i postavljane na lokalitetima na kojima su utvrđene seropozitivne osobe (tokom 2010. godine). Prisustvo VZN je detektovano različitim testovima, uključujući detekciju antigena virusa (VecTest®), izolaciju virusa na kulturi ćelija i molekularnom metodom RT-qPCR (Petrić i sar., 2012). Na ovaj način je na prisustvo VZN ispitano ukupno 56757 komaraca (841 pulova od oko 50 jedinki) koji su spadali u 15 vrsta. Prisustvo genoma VZN je utvrđeno samo u 3 zbirna uzorka komaraca uzorkovanih 2010. godine na lokaciji novosadske gradske četvrti Detelinara. Ovo je ujedno i prvi nalaz potvrde prisustva VZN u vektorskim komarcima na području Srbije. Utvrđeni virusni izolat iz komaraca je i sekvencioniran i potvrđen kao virus linije 2 VZN (Petrić i sar., 2012).

Tokom sezone aktivnosti komaraca 2012. godine, istovremeno sa pojavom prve epidemije VZN u humanoj populaciji u Srbiji, vršeno je kontinuirano periodično uzorkovanje komaraca na 62 lokaliteta u 31 opštini na području Srbije. Prisustvo genoma VZN je, za razliku od veoma niske prevalencije utvrđene u prethodnom ispitivanju sprovedenom od 2005. do 2010. godine, potvrđeno RT-qPCR testom u čak 9,55% od 314 zbirnih uzoraka (pulova) komaraca (11113 jedinki komaraca) sa područja 9 opština i to u komarcima koji su pripadali vrstama: *Cx. pipiens pipiens*, *Aedimorphus vexans* and *Culiseta annulata* (Petrić i sar., u štampi). Ova ispitivanja su potvrdila veoma intenzivnu cirkulaciju VZN u vektorima virusa, što je i rezultiralo pojavom prethodno opisane epidemije kod ljudi 2012. godine.

Sa testiranjem komaraca se nije stalo ni tokom zime 2012. i ranog proleća 2013. godine. U tom periodu je na prisustvo genoma VZN ispitano 31 zbirni uzorak *Cx. pipiens pipiens* komaraca u hibernaciji sa 4 lokaliteta, ergela konja na kojima su prethodno potvrđeni nalazi VZN u komarcima ili je potvrđena serokonverzija kod konja (Petrović i sar., 2014). Cilj ovog ispitivanja je bio da se pokuša utvrditi da li VZN na našim prostorima može prezimiti u komarcima koji prezimljavaju kao adulti u zatvorenim prostorima. Ispitivanjem nije detektovan VZN, odnosno nije potvrđena hipoteza o mogućem prezimljavanju VZN u adultnim komarcima, odnosno opstanku i daljem enzootskom širenju VZN na ovaj način na nekom području (Petrović i sar., 2014).

Tokom sezone 2013. godine je takođe vršeno kontinuirano periodično uzorkovanje komaraca na 20 lokaliteta na području Vojvodine. Nakon detaljne identifikacije vrsta komaraca, kao i u ranijim ispitivanjima, jedinke su grupisane u pulove u odnosu na vrstu i lokalitet uzorkovanja i testirane molekularnom RT-qPCR metodologijom na prisustvo VZN. Od 306 ispitanih pulova komaraca koji su spadali u 15 vrsta, pozitivan nalaz na prisustvo genoma VZN je utvrđeno u 28 pulova (9,15%), što je takođe ukazivalo na podjednako veliki intenzitet cirkulacije VZN u vektorskim komarcima kao i prethodne 2012. godine, što je i rezultiralo pojavom do sada u Srbiji najveće epidemije kod ljudi 2013. godine (Petrić i sar., u štampi). Nekoliko izolata virusa VZN utvrđenih u komarcima tokom 2012. i 2013.

godine je i sekvencionirano u E delu genoma virusa i svi su klasifikovani kao virus linije 2 VZN (Petrić i sar., u štampi).

Dobijeni rezultati potvrđuju cirkulaciju VZN kod divljih ptica i komaraca u Srbiji i to virusa koji pripada liniji 2, koji su u proteklih 4 godine uzrokovali velike epidemije kod ljudi i životinja u Rumuniji, Grčkoj i Italiji. S obzirom na ovaj nalaz, velika je verovatnoća da su ovi virusni izolati izazvali i epidemije ljudi u Srbiji tokom 2012. i 2013. godine, kao i da će predstavljati dalju pretnju za zdravlje kako ljudi tako i životinja. S tim u vezi postoji velika potreba za konstantnim nadzorom nad prisustvom i cirkulacijom VZN na području Srbije.

S obzirom na to da je pojava infekcije VZN kod životinja, naročito kod konja i domaće pernate živine najčešće preteča i alarmirajući znak za skoriju pojavu infekcije kod ljudi, veterinarska služba u Srbiji je prepoznala svoju značajnu ulogu u zaštiti javnog zdravlja i pokrenula jedan nacionalni program monitoringa VZN kod konja i seoske živine kao sentinel životinja, kao i komaraca i divljih ptica kao domaćina i vektora VZN na području Srbije.

Trenutni i budući koraci i očekivanja / *Current and future steps and expectations*

U odnosu na prikazane rezultate mnogih sprovedenih seroloških i virusoloških ispitivanja i realne pretpostavke o nastavku intenzivne cirkulacije VZN i opasnosti za javno zdravlje ali i zdravlje životinja na području Republike Srbije, od aprila 2014. godine je Uprava za veterinu Ministarstva poljoprivrede i zaštite životne sredine pokrenula nacionalni program monitoringa VZN, koji na terenu sprovode veterinarski naučni i specijalistički instituti i nadležne veterinarske stanice. Osnovni cilj monitoringa je rana detekcija prisustva VZN na nekom području i pravovremeno alarmiranje humane zdravstvene službe i lokalnih samouprava radi kontrole – suzbijanja komaraca, informisanja stanovništva i preduzimanja svih mogućih preventivnih mera zaštite ljudi. Program monitoringa – nadzora pojave i širenja VZN se zasniva na indirektnom i direktnom praćenju prisustva VZN u prirodi. Indirektno praćenje virusa se vrši serološkim testiranjem na VZN seronegativnih – sentinel konja i živine izležene tokom 2014 godine (mlade jedinke izležene u godini u kojoj se vrši nadzor). Serološka testiranja se vrše kontinuirano i periodično (svake 2 nedelje kod živine i jednom mesečno kod konja) u periodu aktivnosti komaraca (maj–septembar). Broj sentinel životinja koje se prate je definisan na nivou svakoga okruga Republike Srbije i to u odnosu na visinu rizika od pojave infekcije VZN na tom okrugu, a ona je određena na osnovu postojećih podataka o obolelim ljudima u 2012. i 2013. godini i predhodnih seroloških ispitivanja sprovedenih kod konja. Nalaz serokonverzije kod sentinel životinje (nalaz specifičnih antitela protiv VZN u krvnim serumima predhodno seronegativnih jedinki) predstavlja dokaz prisustva – cirkulacije VZN na tom području. Direktno praćenje prisustva VZN se vrši kontinuiranim i periodičnim ispitivanjima zbirnih uzoraka komaraca uzorkovanih svake dve nedelje u periodu njihove najveće aktivnosti (maj–septembar) i divljih ptica (tkiva uginulih i briseva živih prijemčivih vrsta divljih ptica) na

prisustvo ovoga virusa. Broj uzoraka za ispitivanje je takođe određen po okruzima na osnovu visine rizika.

S obzirom na postavku programa nadzora, koji predstavlja mešavinu uspešnih metodoloških prilaza nadzoru ove virusne infekcije koji se primenjuju u svetu, može se realno pretpostaviti da će tokom 2014. i narednih godina brzina detekcije cirkulacije VZN na području biti brža, a informisanje i preventivne mere zaštite stanovništva uključujući i mere kontrole komaraca pravovremene, što će zajedno doprineti smanjenju broja obolelih osoba i smanjiti opasnosti za zdravlje životinja, naročito konja na području Republike Srbije.

ZAHVALNICA / ACKNOWLEDGEMENT:

Rad je realizovan po projektu TR31084 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, kao i projekta TR43007 finansiranog od istog Ministarstva i projekta broj: 114-451-2142/2011-01 finansiranog od Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj Pokrajine Vojvodine. /

This work is realized within the project TR31084 funded by Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, the project TR43007 funded by the same Ministry, as well as the project number 114-451-2142/2011-01 funded by Provincial Secretariat for Science and Technological Development AP Vojvodina.

Literatura / References

1. Bagnarelli P, Marinelli K, Trotta D, Monchetti A, Tavio M, Del Gobbo R, Capobianchi MR, Menzo S, Nicoletti L, Magurano F, Varaldo PE. Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy. *Euro Surveill*. 2011; Vol 16, No 43, pii=20002.
2. Bakonyi T, Ivanics E, Erdelyi K, Ursu K, Ferenczi E, Weissenböck H, Nowotny N. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(4), 618-623.
3. Barbić Lj, Liste, E, Katić S, Stevanović V, Madić J, Starešina V, Labrović A, Di Gennaro A, Savini G. Spreading of West Nile virus infection in Croatia. *Veterinary Microbiology* 2012; Vol 159, No 3-4, 504–508
4. Blitvich BJ. Transmission dynamics and changing epidemiology of West Nile virus. *Anim Health Res Rev* 2008; 9(1), 71-86.
5. Bordjoski M, Gligić A, Bosković R. Arbovirusne infekcije u SR Srbiji. *Vojnosanit Pregl* 1972; Vol 29, No 4, 173-175.
6. Calistri P, Giovannini A, Hubalek Z, Ionescu A, Monaco F, Savini G, Lelli R. Epidemiology of West Nile in Europe and the Mediterranean basin. *The Open Virol J* 2010; No 4, 29-37.
7. Danis K, Papa A, Theocharopoulos G, Douglas G, Athanasiou M, Detsis M, Agoritsa B, Theodoros L, Kassiani M, Stefanos B, Panagiotopoulos T. Outbreak of West Nile virus infection in Greece, 2010. *Emerg Infect Dis* 2011; 17 (10):1868-1872.
8. Dauphin G, Zientara S, Zeller H, Murgue B. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004; Vol 27 No5, 343-355.
9. Đuričić B, Vasić A, Rogožarski D, Vojinović D, Elezović Radovanović M, Manić M, Marić J, Prokić N, Ilić Ž, Novotny N, Gligić A. Seroepizootiological-epidemiological investigation and mapping of West Nile infection in the Republic of Serbia. *Acta Veterinaria (Beograd)* 2013; Vol. 63, No. 5-6, 569-579. DOI: 10.2298/AVB 1306569D

10. EpiSouth Weekly Epi Bulletin - N°232, 22nd August – 28th August 2012 (e-WEB) dostupno na: http://www.episouthnetwork.org/sites/default/files/bulletin_file/eweb_232_30_08_12.pdf
11. EpiSouth Weekly Epi Bulletin - N°240, 17 October – 23 October 2012 (e-WEB) dostupno na: <http://www.episouthnetwork.org/content/episouth-weekly-epi-bulletin-e-web>
12. Erdélyi K, Ursu K, Ferenczi E, Szeeredi L, Ratz F, Skare J, Bakonyi T. Clinical and pathological features of lineage 2 West Nile virus: Infections in birds of prey in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; Vol 7, No 2, 181-188
13. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Reported cases of West Nile fever for the EU and neighbouring countries. Situations update 30. November 2012. [Pristupljeno 16 dec 2012]. Dostupno na: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/index.aspx
14. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). West Nile Fever – situation update 06 November 2013. [Pristupljeno 20 nov 2013]. Dostupno na: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/2013-table.aspx
15. Escribano-Romero E, Lupulović D, Merino T, Blázquez A-B, Lazić G, Lazić S, Saiz JC, Petrović T. West Nile virus serosurveillance in pigs, wild boars and roe deer in Serbia. *Veterinary Microbiology* 2015; Vol 176, 365-369
16. Garcia-Bocanegra I, Jaén-Télle JA, Napp S, Arenas-Montes A, Fernández-Morente M, Fernández-Molera V, Arenas A. West Nile fever outbreak in horses and humans, Spain, 2010. *Emerg Infect Dis* 2011; Vol.17, No. 12, 2397–99.
17. Hayes E, Komar N, Nasci R, Montgomery S, O'Leary D, Campbell G. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 2005; Vol 11, No 8, 1167-73.
18. Hrnjaković-Cvjetković I, Cvjetković D, Petrić D, Milošević V, Jerant-Patić V, Zgomba M. Savremena saznanja o infekciji virusom Zapadnog Nila. *Medicinski Pregled* 2009; Vol. 62, No5/6, 231-235
19. Hubálek Z, Halouzka J. West Nile Fever – a re-emerging Mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Inf Dis* 1999, Vol 5, No 5, 643-650.
20. Institut za javno zdravlje Srbije. Informacija o aktualnoj epidemiološkoj situaciji groznice Zapadnog Nila na teritoriji Republike Srbije u 2014. godini - 25.07.2014. (Dostupno na: www.batut.org.rs; <http://www.batut.org.rs/index.php?content=940>)
21. Komar N. West Nile viral encephalitis. *Rev Sci Tech* 2000; 19:166–171.
22. Komar N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Adv Virus Res* 2003; Vol 61, 185–234.
23. Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, Davis B, Bowen R, Bunning M. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 Strain of West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2003; Vol 9, No 3, 311-322.
24. Kramer L, Li J, Shi PY. West Nile virus. *Lancet Neurol* 2007; 6:171–181.
25. Linke S, Niedrig M, Kaiser A, Ellerbrok H, Muller K, Muller T, Conraths FJ, Muhle RU, Schmidt D, Koppen U, Bairlein F, Berthold P, Pauli G. Serologic evidence of West Nile virus infections in wild birds captured in Germany. *Am J Trop Med Hyg* 2007; Vol 77, 358–364.
26. Lupulović D, Martín-Acebes M, Lazić S, Alonso-Padilla J, Blázquez A-B, Escribano-Romero E, Petrović T, Saiz JC. First Serological Evidence of West Nile Virus Activity in Horses in Serbia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2011; Vol. 11, No9, 1303-05.
27. Madić J, Savini G, Di Gennaro A, Monaco F, Jukic B, Kovac S, Rudan N, Listes E. Serological evidence for West Nile virus infection in horses in Croatia. *Vet Rec* 2007; Vol 160, No 2, 772-773.
28. Martín-Acebes MA, Saiz JC. West Nile virus: a re-emerging pathogen revisited. *World J Virol* 2012;1(2):51-70.
29. Medić S, van den Hoven R, Petrović T, Lupulović D, Nowotny N. Serological evidence of West Nile virus infection in the horse population of northern Serbia. *J Infect Dev Ctries* 2014; 8(7):914-918. doi:10.3855/jidc.3885

30. Papa A, Bakonyi T, Xanthopoulou K, Vazquez A, Tenorio A, Nowotny N. Genetic characterization of West Nile virus lineage 2, Greece, 2010. *Emerg Infect Dis* 2011; Vol 17, 920–922.
31. Petrić D, Hrnjaković Cvjetković I, Radovanov J, Cvjetković D, Jerant Patić V, Milošević V, Kovačević G, Zgomba M, Ignjatović Čupina A, Konjević A, Marinković, D, Paz Sánchez-Seco M. West Nile virus surveillance in humans and mosquitoes and detection of cell fusing agent virus in Vojvodina province (Serbia). *HealthMED* 2012; Vol. 6, No 2, 462-468
32. Petrić D, Zgomba M, Ignjatović Čupina A, Bellini R, Hrnjaković Cvjetković I, Milošević V, Jerant Patić V, Lazić S, Petrović T. West Nile virus presence in mosquitoes in Serbia during 2012. U štampi
33. Petrović T, Blazquez A, Lupulović D, Lazić G, Escribano-Romero E, Fabijan D, Kapetanov M, Lazić S, Saiz JC. Monitoring West Nile virus (WNV) infection in wild birds in Serbia during 2012: first isolation and characterisation of WNV strains from Serbia. *Eurosurveillance* 2013; Vol 18, 44, 1-8.
34. Petrović T, Lazić S, Lupulović D, Lazić G, Bugarski D, Vidanović D, Stefan-Mikić S, Milošević V, Hrnjaković-Cvetković I, Petrić D. Serological study on WNV presence in horses in Vojvodina after the human outbreak in Serbia in 2012. *Arch Biol Sci Belgrade* 2014; 66 (2), 473-481. DOI:10.2298/ABS1402473P
35. Platonov AE, Fedorova MV, Karan LS, Shopenskaya TA, Platonova OV, Zhuravlev VI. Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitol Res* 2008; 103, Suppl 1, 45-53.
36. Popović N, Milošević B, Urošević A, Poluga J, Lavadinović L, Nedeljković J, Jevtović D, Dulović O. Outbreak of West Nile virus infection among humans in Serbia, August to October 2012. *Euro Surveill.* 2013;18(43):pii=20613.
37. Savini G, Capelli G, Monaco F, Polci A, Russo F, Di Gennaro A, Marini V, Teodori L, Montarsi F, Pinoni C, Pisciella M, Terregino C, Marangon S, Capua I, Lelli R. Evidence of West Nile virus lineage 2 circulation in Northern Italy. *Vet Microbiol* 2012; 158 No 3-4, 267-273.
38. Sirbu AC, Sirbu A, Celanu CS, Panculescu-Gatej R, Vazquez A, Tenorio A, Rebreanu R, Niedrig M, Nicolescu G, Pistol A. Outbreak of West Nile virus infection in humans. *Euro Surveill* 2010; 16(2). pii: 19762
39. Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 1940; 20, 471-492.
40. Trevejo RT, Eidson M. Zoonosis update: West Nile virus. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232, 1302–1309.
41. Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GC, Nedelcu NI. An epidemic of West Nile encephalitis in southeastern Romania. *Lancet* 1998;352: 767–771.
42. Valiakos G, Touloudi A, Iacovakis C, Athanasiou L, Birtsas P, Spyrou V, Billinis C. Molecular detection and phylogenetic analysis of West Nile virus lineage 2 in sedentary wild birds (Eurasian magpie), Greece, 2010. *Euro Surveill* 2011; 16(18):pii=19862.
43. van der Meulen KM, Pensaert MB, Nauwynck HJ. West Nile virus in the vertebrate world. *Arch Virol* 2005;150, 637–657.
44. Vesenjāk-Hirjan J, Punda-Poli V, Dobec M. Geographical distribution of arboviruses in Yugoslavia. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology (Prague)* 2001; 35, 129-40.
45. Weissenböck H, Hubálek Z, Bakonyi T, Nowotny N. Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases. *Vet. Microbiol* 2010; 140, 271–280.
46. Wodak E, Richter S, Bagó Z, Revilla-Fernández S, Weissenböck H, Nowotny N, Winter P. Detection and molecular analysis of West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet Microbiol* 2011; 149, No 3-4, 358-366.
47. Ziegler U, Seidowski D, Angenvoort J, Eiden M, Müller K, Nowotny N, Groschup MH. Monitoring of West Nile Virus Infections in Germany. *Zoonoses and Public Health* 2012; Vol. 59, 95-101

**WNV INFECTION - AN EMERGENT VECTOR BORNE VIRAL INFECTION IN SERBIA:
CURRENT SITUATION**

Petrović Tamaš, Lupulović Diana, Petrić Dušan, Vasić Ana, Hrnjaković Cvjetković Ivana, Milošević Vesna, Vidanović Dejan, Šekler Milanko, Lazić Sava, Đuričić Bosiljka, Plavšić Budimir, Saiz Juan-Carlos

West Nile virus (WNV) is a neurovirulent mosquito-borne Flavivirus with zoonotic potential. Virus is maintained in nature in an enzootic transmission cycle between avian hosts and mosquito vectors, but occasionally infects other vertebrates. The infection in horses and humans can be asymptomatic or it can have different clinical manifestations ranging from light febrile diseases to fatal meningoencephalitis. Recently, the number, frequency and severity of outbreaks with neurological consequences for birds, humans and horses have increased dramatically throughout central and south Europe, including Serbia, posing a serious veterinary and public health problem.

The emergency of WNV infections in Serbia is described through the current epidemiology situation based on recent data on the incidence of WNV infection among virus natural hosts and vectors; sentinel (horses) and other animal species, and in human population. The results of the WNV serology studies conducted on horse blood samples collected in different occasions during the last six years, and the results of the serology studies conducted among other animal species like pigs, wild boars, roe deer and dogs in Serbia are presented and discussed. Also, the results of the first studies on WNV presence in mosquito vectors and in wild birds as virus natural hosts in Serbia are presented and analyzed. In addition, the data on the WNV serology studies conducted in human population in Serbia in the last few years, and the existing data of WNV outbreaks in 2012 and 2013 are included.

Regarding the existing knowledge on WNV epidemiology situation, the crucial role of veterinary service in early detection of WNV presence and ongoing national program of WNV surveillance in sentinel animals, mosquitoes and wild birds are discussed.

Key words: West Nile virus, antibody and virus detection, domestic and wild animals, human population, mosquitoes, surveillance program, Serbia

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА – СЕРЬЕЗНАЯ ВЕКТОРНАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ В СЕРБИИ: ТЕКУЩАЯ СИТУАЦИЯ

Петрович Т., Лупулович Диана, Петрич Д., Васич Ана, Хрнякович Цветкович Ивана, Милошевич Весна, Виданович Д., Шеклер М., Лазич С., Джуричич Босилька, Плавшич Б., Saiz Juan-Carlos

Вирус Западного Нила (ВЗН) нейровирулентный переносимый комарами флавивирус, с зооотическим потенциалом. Вирус сохраняется в природе в энзоотическом цикле между птицами в качестве хозяев и комарами как вектором вируса, но одновременно может стать источником заражения других позвоночных. У людей и лошадей заболевание может протекать бессимптомно или с разной клинической картиной, от фебрильного состояния до летального менингоэнцефалита. В последние годы в Центральной и Южной Европе, а также в Сербии, драматично увеличилось число, частота и тяжесть заболевания с неврологическими осложнениями у птиц, людей и лошадей, что является серьезной проблемой ветеринарии и общественного здравоохранения.

Серьезность проблемы заражения ВЗН в Сербии характеризуется текущей эпизоотическо-эпидемиологической ситуацией, основывающейся на недавно полученных сведениях о присутствии этого инфекционного заболевания среди естественных хозяев и вектора, у лошадей как индикаторных животных и других видов, а также в человеческой популяции. Описаны результаты серологических исследований, проведенных в Сербии на образцах сыворотки крови лошадей, взятых в различные периоды за последние 6 лет, а также результаты серологических исследований, проведенных на образцах сыворотки крови животных других видов, таких как свиньи, дикие кабаны, олени и собаки. Также представлены и проанализированы результаты первых исследований присутствия вируса у комаров-векторов и диких птиц, естественных хозяев, в Сербии. Кроме того, представлены результаты серологических исследований, проведенных в человеческой популяции в Сербии в последние несколько лет, а также данные об эпидемиях в 2012 и 2013 году.

На основе имеющихся сведений об эпидемиологической ситуации подчеркивается ключевая роль ветеринарной службы в раннем обнаружении присутствия ВЗН и значимость текущей национальной программы мониторинга присутствия ВЗН у индикаторных животных, комаров и диких птиц в Сербии.

Ключевые слова: вирус Западного Нила, детекция антител и вируса, домашние и дикие животные, люди, комары, программа мониторинга, Сербия